

PIT2018
Kongres XX & Pertemuan Ilmiah Tahunan
IKATAN APOTEKER INDONESIA

IKATAN APOTEKER INDONESIA

Tugu Zapin Pekanbaru

Trusted Pharmacist for a Better Quality of Life

Prosiding

Kongres XX & Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia



ISBN: 978-979-95108-4

18-21 April 2018

LABERSA GRAND HOTEL & CONVENTION CENTER,
Pekanbaru, Riau.

Ikatan Apoteker Indonesia
Jakarta

KIMIA MEDISINAL, BIOLOGI MOLEKULER DAN BIOTEKNOLOGI (KM) ..605

Validasi Metode Analisis Cemaran Logam Berat Kromium (Cr), Timbal (Pb), Dan Kadmium (Cd) Pada Kerang Hijau (*Perna viridis*) Dan Kerang Darah (*Tegillarca nodifera*) Dari Pantai Kenjeran Surabaya Secara *Inductively Coupled Plasma Spectrometry*.....606

Kusuma Hendrajaya, Ririn Sumiyani, Dea Navisha, Dini Kartika Putri606

Identifikasi Gen Sitokrom P450 2A6 Alel *9 (CYP2A6*9) pada Subjek Uji Perokok Suku Thionghoa dan Papua Indonesia menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR).....613

Patramurti, Christine^{1*}, Candaya, Evan Julian,² Prabowo, Dismas Adi²613

Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas Secara *In Silico* Senyawa 1-Benzil-3-benzoilurea dan Analognya Sebagai Antikanker Melalui Hambatan Reseptor BRAF Kinase.....621

Suhud, Farida^{1*}, IGA Satria Adi Mulyadarma¹, Siswandono²621

Pemodelan Molekul, Sintesis dan Uji Sitotoksik *N*-(Fenilkarbamotioil)-4-Klorobenzamida Sebagai Kandidat Antikanker Payudara.....628

Kesuma, Dini^{1*}, Siswandono², Purwanto, Bambang T², Rudyanto, Marcellino³628

Aktivitas Antikanker Senyawa *N*-Etil-*N*-Feniltiourea secara *In Silico* dan *In Vitro* Pada Sel Kanker Payudara T47D dan Selektivitasnya pada Sel Normal Vero636

Santosa, Harry^{1*}, Kesuma, Dini¹636

Metode Alternatif untuk Analisis Enalapril dalam Plasma selain *HPLC-MS-MS* melalui Derivatisasi dengan *1-Fluoro-2,4-Dinitrobenzen* (FDNB).....644

Ririn Sumiyani¹, Kusuma Hendrajaya¹, Nathalia Gunawan Putri² dan Widya Kandisasmita Purwaningtyas Sugiharta²644

Efek Sitotoksik dan Penghambatan Kinetika Proliferasi Ekstrak Etanol Kulit Batang Beringin Pencekik (*Ficus annulata*, BI) dan Epirubicin Sebagai Agen Ko-Kemoterapi Terhadap Sel Kanker Payudara T47D650

Siti Mulyanah¹, Elza Sundhani^{1,2}, Nunuk Aries Nurulita^{1,3}650

Skrining Virtual Senyawa – Senyawa dari 12 Tanaman Antimalaria sebagai Inhibitor Enzim *Dihidro folat Reduktase* (DHFR)659

Titiek Martati^{1*}, Esti Mumpuni², Esti Mulatsari² dan Victor Christoper³659

Identifikasi Gen Sitokrom P450 2A6 Alel *9 (CYP2A6*9) pada Subjek Uji Perokok Suku Thionghoa dan Papua Indonesia menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)

Patramurti, Christine^{1*} Candaya, Evan Julian,² Prabowo, Dismas Adi²

^{1,2} Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta 55282, Indonesia

Corresponding author: Christine Patramurti

Email: patra@usd.ac.id

ABSTRAK

Latar belakang: Enzim CYP2A6 adalah salah satu anggota enzim sitokrom P450 yang memiliki bentuk polimorfisme yang tinggi. Bentuk polimorfi suatu gen sangat bervariasi diantara suku bangsa. Salah satu bentuk alel gen yang menyandi enzim ini adalah gen CYP2A6*9, dimana pada gen ini terjadi mutasi titik pada *TATA box* (T-48G) pada ujung '5 yang menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas enzim.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi gen CYP2A6*9 pada subjek uji perokok suku Thionghoa dan Papua Indonesia menggunakan metode Polymerase Chain Reaction (PCR)

Metode: Penelitian ini menggunakan desain penelitian *Cross Sectional*. Subjek uji yang terlibat dalam penelitian ini sebanyak 30 orang perokok aktif bersuku Thionghoa dan 30 orang perokok aktif berasal dari suku Papua. Sistem *PCR* yang digunakan adalah primer *forward*, primer *reverse* dan reagen yang digunakan dalam penelitian ini berturut-turut adalah 5'-GAT TCC TCT CCC CTG GAA C-3', 5'-GGC TGG GGT GGT TTG CCT TTA-3', dan Promega *Go Taq Green Master Mix*. Kondisi PCR yang digunakan adalah *initial denaturation* pada suhu 94°C selama 3'; diikuti dengan 30 siklus terdiri dari *denaturation* pada suhu 94°C selama 30", *annealing* pada suhu 60°C selama 30", dan *extension* pada suhu 70°C selama 25"; kemudian diakhiri dengan *final extension* pada suhu 72°C selama 5'. Produk PCR yang dihasilkan berada pada panjang pita 368 bp.

Hasil penelitian: Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dari 30 subjek uji bersuku Thionghoa, sebanyak 7 orang subjek uji teridentifikasi memiliki bentuk alel CYP2A6*9 dengan frekuensi alel sebesar 23%. Sedangkan pada subjek uji yang berasal dari suku Papua tidak satupun subjek uji memiliki alel *9.

Kesimpulan: Adanya alel CYP2A6*9 diantara subjek uji bersuku Thionghoa Indonesia yang diteliti mempengaruhi perilaku merokok subjek uji, sedangkan pada populasi Papua, perilaku merokok tidak dipengaruhi oleh adanya alel *9.

Kata Kunci: Polimorfi, gen sitokrom P450 2A6*9, Suku Thionghoa, Papua, Indonesia

PENDAHULUAN

Gen Sitokrom P450 2A6 (CYP2A6) merupakan gen yang mengekspresikan enzim CYP2A6. Enzim ini bertanggungjawab terhadap 70-90% metabolisme nikotin, suatu senyawa kimia yang dianggap paling bertanggungjawab terhadap timbulnya efek ketergantungan terhadap rokok⁽¹⁾. Enzim ini juga dapat mengaktivasi beberapa senyawa nitrosamin yang terdapat

dalam asap rokok menjadi senyawa alkil diazohidroksida, suatu DNA- *alkylating agents*, suatu senyawa yang bersifat karsinogen⁽²⁾.

Enzim CYP2A6 merupakan salah satu enzim sitokrom P450 yang diketahui memiliki bentuk polimorfi yang tinggi⁽³⁾. Menurut Maggert (2012)⁽⁴⁾, genetik polimorfisme didefinisikan sebagai variasi bentuk dari gen yang menghasilkan dua atau lebih varian dan masing-masing varian memiliki frekuensi yang cukup tinggi. Saat ini terdapat 80 jenis bentuk polimorfi CYP2A6 yang sudah berhasil diidentifikasi (<https://www.pharmvar.org/gene/CYP2A6>). Adanya polimorfisme CYP2A6 akan mempengaruhi aktivitas enzim pada metabolisme senyawa xenobiotik dalam tubuh, baik dengan menurunkan, menghilangkan atau meningkatkan aktivitas enzim⁽⁵⁾.

Bentuk polimorfi enzim CYP2A6 banyak ditemukan pada orang-orang Asia, dengan frekuensi alel nonaktif tinggi⁽⁶⁻⁸⁾. Menurut Nakajima dan Yokoi (2005)⁽⁹⁾ bentuk alel non aktif CYP2A6 pada populasi Asia adalah CYP2A6*4 (11-20%), CYP2A6*7 (4-7%), CYP2A6*9 (20%). Alel CYP2A6*9 merupakan alel yang mempunyai *single-nucleotide polymorphism* (SNP), metabolisme nikotin pada perokok yang memiliki alel CYP2A6*9 akan mengalami penurunan dibandingkan dengan perokok yang mempunyai gen CYP2A6 normal⁽¹⁰⁾. Beberapa penelitian lain menyebutkan adanya alel CYP2A6*9 ini dapat menurunkan risiko terjadinya berbagai jenis penyakit kanker yang disebabkan oleh asap rokok⁽¹¹⁻¹³⁾.

Frekuensi dan jenis alel suatu enzim yang mempunyai bentuk polimorfi sangat bervariasi diantara berbagai suku bangsa karena frekuensi dan jenis alel sangat dipengaruhi oleh faktor genetik. Indonesia merupakan salah satu negara kepulauan yang memiliki gugusan pulau terbesar dan terpanjang di dunia. Kondisi ini menyebabkan Indonesia memiliki tingkat keberagaman suku bangsa yang tinggi. Ras terbesar di Indonesia berasal dari ras Melayu Mongoloid, dimana salah satu suku bangsa dari ras ini adalah suku Thionghoa. Ras ini memiliki kulit yang lebih cerah dibanding suku yang lain. Ras berkulit gelap yang ada di Indonesia berasal dari ras Papua Melanezoid, dimana salah satu suku bangsa dari ras ini adalah suku Papua⁽¹⁴⁾. Berdasarkan kondisi ini, maka penelitian ini bertujuan untuk melihat adanya polimorfi gen CYP2A6 diantara subjek uji bersuku Thionghoa dan Papua Indonesia. Jenis alel yang diteliti adalah alel CYP2A6*9. Metode yang digunakan untuk mengidentifikasi adanya alel CYP2A6*9 diantara subjek uji adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan metode molekuler untuk menggandakan potongan DNA hingga berjuta kali lipat dalam waktu yang relatif singkat. Metode ini mampu mengamplifikasi suatu fragmen gen pada templat DNA berdasarkan primer tertentu sehingga dapat dilakukan untuk mengidentifikasi suatu alel dalam sampel DNA⁽¹⁵⁾.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Promega *Go Taq Green Master Mix*, primer *forward* 2A6*9S (5'-GATTCCTCTCCCCTGGAAC-3'), primer *reverse* 2A6*9AS-*wild type* (5'-GGCTGGGGTGGTTTGCCTTTA-3'), *FavorPrep TM Genomic DNA Mini Kit* (Blood/Cultured Cell), Tris-Borate-EDTA Buffer (10x), gel agarose (Vivantis), *Gel Red TM Nucleic Acid Gel Stain* (Biotium), VC 100bp *Plus DNA marker* (Vivantis), DNA *loading dye* (Vivantis), etanol 96% (Sigma Chemical Co., St. Louis), aqua bidestilata steril (Ikapharmindo).

Metode

Penentuan subjek uji

Subjek uji yang terlibat pada penelitian ini adalah perokok aktif yang berasal dari suku Thionghoa dan suku Papua Indonesia minimal sampai *third degree relatives*. Masing-masing kelompok subjek uji berjumlah 30 subjek uji, berumur 20-40 tahun, sehat jasmani dan rohani, tidak sedang mengonsumsi obat-obatan, serta bersedia menandatangani *informed consent*.

Pengambilan sampel darah

Sampel darah diambil dari pembuluh vena subjek uji dan ditampung dalam *vacuumtainer* yang berisi EDTA (1,8mg/mL darah). Darah segar yang diperoleh disimpan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$, sebelum dianalisis. Darah ini kemudian digunakan untuk identifikasi alel CYP2A6*1 dan CYP2A6*4.

Isolasi DNA dari sampel darah

Ekstraksi DNA dari sampel darah dilakukan dengan metode *salting-out* menggunakan reagen *FavorPrep TM Genomic DNA Mini Kit (Blood/Cultured Cell)*. Volume darah yang digunakan sebanyak 1,0 mL. Hasil isolasi DNA total disimpan pada suhu -20°C .

*Identifikasi alel CYP2A6*9 menggunakan metode PCR.*

Amplifikasi alel CYP2A6*9 dilakukan dengan mesin PCR (*Thermal cycler* Perkin Elmer 2400) menggunakan Promega *Go Taq Green Master Mix* dimana kadar genomik DNA masing-masing larutan kira-kira 50 ng pada volume akhir 25 μL . Kondisi PCR digunakan adalah sebagai berikut: *initial* denaturasi pada suhu 95°C (5'); dilanjutkan dengan denaturasi pada suhu 98°C (20"); *annealing* pada suhu 64°C (15") dan ekstensi pada suhu 72°C (30"). Siklus amplifikasi tersebut dilakukan sebanyak 25 kali dan selanjutnya diakhiri dengan *final* ekstensi pada suhu 72°C (5'). Produk PCR dianalisis menggunakan elektroforesis. Alel CYP2A6*1 akan terdeteksi pada pita 368 bp, sedangkan adanya alel CYP2A6*9 tidak akan menghasilkan produk PCR.

Analisis Hasil

Besarnya frekuensi alel CYP2A6*9 pada masing-masing populasi dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Frekuensi} = \frac{\text{jumlah alel}}{\text{jumlah populasi}} \times 100\%$$

HASIL

Subjek uji yang terlibat pada penelitian ini berasal dari suku Thionghoa dan Papua, masing-masing suku berjumlah 30 orang perokok aktif, berumur antara 20-30 tahun, jumlah rokok yang dihisap (*Cigarette per Day/CPD*) antara 5-25 dengan lama merokok 5-10 tahun (Tabel 1). Hasil isolat DNA dari sampel darah subjek uji berupa larutan yang jernih dan pada tahap identifikasi DNA menggunakan teknik elektroforesis menunjukkan adanya pita tunggal dan tebal dengan ukuran lebih dari 3000 bp (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa isolat yang dihasilkan murni, tidak tercemar oleh protein lain serta tidak terdegradasi. Oleh karena itu

isolat DNA yang diperoleh dapat digunakan untuk analisis gen CYP2A6*9 menggunakan metode PCR.

Semua sampel DNA, baik pada populasi subjek uji Thionghoa maupun Papua, sebesar 100% sampel berhasil diamplifikasi dan menghasilkan produk PCR seperti yang dikehendaki (Gambar 2). Pada populasi Thionghoa, persentase subjek uji yang mempunyai gen CYP2A6*9 adalah sebesar 23,4%, sedangkan pada populasi Papua, gen CYP2A6*9 tidak ditemukan diantara subjek uji (Tabel 1).

PEMBAHASAN

Identifikasi gen CYP2A6 pada penelitian ini dilakukan dalam rangka studi polimorfisme gen CYP2A6 di Indonesia. Pemilihan alel CYP2A6*9 didasarkan adanya frekuensi alel *slow metabolizer* seperti CYP2A6*9 yang sangat tinggi pada populasi Asia, terutama pada populasi oriental⁽⁵⁾. Gen CYP2A*9 merupakan gen CYP2A6 yang mengalami mutasi pada posisi TATA box (-48T>G), hal inilah yang menyebabkan penurunan aktivitas enzim CYP2A6⁽³⁾.

Subjek uji yang terlibat dalam penelitian ini merupakan perokok aktif yang berasal dari suku Thionghoa dan Papua (Tabel 1). CPD subjek uji dikelompokkan menjadi tiga, yaitu: *light smokers* (CPD: 1-10), *intermediate smokers* (CPD: 11-20) dan *heavy smokers* (CPD: 21-30)⁽¹⁶⁾. Jenis rokok yang dihisap adalah rokok filter putih yang mempunyai kandungan nikotin sebanyak 12 mg/batang rokok.

Isolasi DNA dari sampel darah subjek uji dilakukan menggunakan reagen *FavorPrep TM Genomic DNA Mini Kit*. Hasil isolat DNA dari kedua kelompok subjek uji menunjukkan kemurnian yang tinggi, sehingga dapat digunakan untuk identifikasi gen CYP2A6*9 menggunakan metode PCR. Penggunaan primer yang spesifik pada PCR dapat digunakan untuk mendeteksi adanya variasi genetik di dalam suatu populasi. Primer yang digunakan primer pada penelitian ini mengacu pada penelitian Yoshida (2003)⁽¹⁷⁾, *primer forward* akan mengamplifikasi ekson 395 sampai 376 dan *primer reverse* mengamplifikasi ekson 48 sampai 28 (Gambar 2). Primer ini hanya mampu menempel pada gen CYP2A6*1, oleh karena itu pada subjek uji yang mempunyai gen CYP2A6*9 tidak akan terbentuk produk PCR (Gambar 3). Adanya perbedaan 1 basa pada gen CYP2A6*9 terhadap gen CYP2A6 (-48T>G) menyebabkan primer tidak dapat menempel pada subjek uji yang memiliki gen CYP2A6*9⁽³⁾.

Amplifikasi gen CYP2A6 menggunakan primer tersebut menghasilkan produk PCR yang berukuran 368-bp (Gambar 3). Hasil analisis produk PCR terhadap 30 sampel dari subjek uji Thionghoa menunjukkan bahwa sebanyak 7 orang subjek uji memiliki gen CYP2A6 dengan frekuensi sebesar 23,4%. Hasil ini mendukung penelitian yang dilakukan oleh Raunio (2012)⁽⁵⁾, dimana bentuk gen CYP2A6*9 banyak ditemukan pada populasi Asia, terutama pada populasi oriental. Gen CYP2A6*9 pada populasi Thionghoa tersebar pada perokok *light smokers*, *intermediate smokers* dan *heavy smokers*. Sedangkan pada 30 sampel yang berasal dari Papua, tidak ada subjek uji yang memiliki gen CYP2A6*9. Hasil ini menunjukkan bahwa adanya alel tidak aktif (CYP2A6*9) pada kedua kelompok subyek uji, tidak berpengaruh pada jumlah rokok yang dihisap. Hal ini konsisten dengan penelitian yang dilakukan oleh Kwon *et al.* (2001)⁽⁶⁾ dan Gambier *et al.* (2005)⁽¹⁸⁾ yang melaporkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara status merokok dengan genotipe CYP2A6. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa variasi genetik CYP2A6 hanya merupakan salah satu

faktor dari efek ketergantungan nikotin. Perilaku perokok selain dipengaruhi oleh faktor genetik juga dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain: faktor lingkungan dan sosial serta faktor psikologis^(19,20).

Enzim CYP2A6 selain berperan dalam metabolisme nikotin juga merupakan enzim yang bertanggungjawab pada aktivasi beberapa senyawa nitrosamin yang terdapat dalam tembakau serta metabolisme beberapa senyawa obat. Seseorang yang memiliki alel tidak aktif gen GYP2A6 tidak dapat mengaktivasi senyawa prokarsinogen yang terdapat dalam asap rokok utamanya senyawa TSNA⁽¹³⁾. Beberapa obat juga dimetabolisme oleh enzim CYP2A6, adanya bentuk tidak aktif enzim ini akan menurunkan laju metabolisme obat, sehingga akan mengakibatkan penumpukan obat dalam darah dan secara tidak langsung akan menaikkan risiko penggunaan obat^(21,22). Daigo *et al.* (2002)⁽²³⁾ menemukan bahwa pasien kanker lambung yang mempunyai status *poor metabolizer* CYP2A6 jika diberikan tegafur tidak mampu menghasilkan bentuk aktif metabolit obat pada konsentrasi yang cukup tinggi, sehingga efek terapi yang diharapkan tidak tercapai. Oleh karena itu pengetahuan tentang polimorfisme enzim ini menjadi sangat penting, utamanya pada studi metabolisme beberapa senyawa toksik maupun senyawa karsinogen serta metabolisme senyawa obat.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

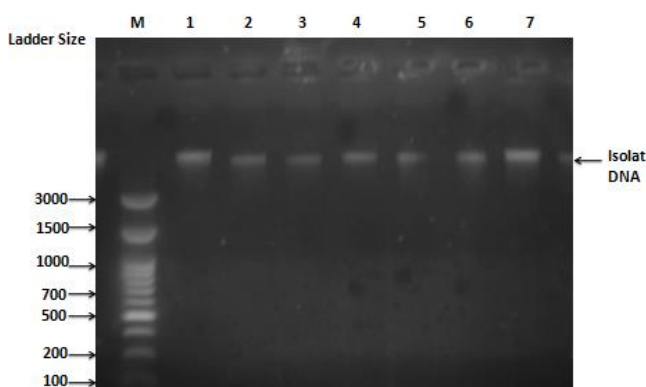
Frekuensi gen CYP2A6*9 diantara subjek uji suku Thiongho yang diteliti ditemukan sebesar 23,4%. Diantara subjek uji suku Papua yang diteliti tidak ditemukan adanya gen CYP2A6*9. Adanya gen CYP2A6*9 diantara kedua kelompok subjek uji tidak mempengaruhi jumlah rokok perhari yang dihisap oleh subjek uji.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hukkanen J, Jacob P, Benowitz NL. Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev.* 2005;57(1):79–115.
2. Chowdhury G, Calcutt MW, Guengerich FP. Oxidation of N-Nitrosoalkylamines by Human Cytochrome P450 2A6: Sequential Oxidation to Aldehydes and Carboxylic Acids and Analysis of Reaction Steps. *J Biol Chem.* 2010;285(11):8031–44.
3. Hukkanen J, Jacob P 3rd, Benowitz NL. Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev.* 2005;57(1):79–115.
4. Maggert KA. Genetics : Polymorphisms , Epigenetics , and Something In Between. 2012.
5. Raunio H, Rahnasto-Rilla M. CYP2A6: genetics, structure, regulation, and function. *Drug Metabol Drug Interact.* 2012;27(2):73–88.
6. Kwon JT, Nakajima M, Chai S, Yom YK, Kim HK, Yamazaki H, et al. Nicotine metabolism and CYP2A6 allele frequencies in Koreans. *Pharmacogenetics.* 2001.
7. Nakajima M, Kwon JT, Tanaka N, Zenta T, Yamamoto Y, Yamamoto H, et al. Relationship between interindividual differences in nicotine metabolism and CYP2A6 genetic polymorphism in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69(1):72–8.
8. Yusof W, Gan SH. High prevalence of CYP2A6*4 and CYP2A6*9 alleles detected among a Malaysian population. *Clin Chim Acta.* 2009;403(1–2):105–9.

9. Nakajima M, Yokoi T. Interindividual variability in nicotine metabolism: C-oxidation and glucuronidation. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2005;20(4):227–35.
10. Yoshida, R., Nakajima, M., Nishimura, K., Tokudome, S., Kwon, J.-T., dan Yokoi T. Effects of polymorphism in promoter region of human CYP2A6 gene (CYP2A6 * 9) on expression level of messenger ribonucleic acid and enzymatic activity in vivo and in vitro. 2003;9236(3):69–76.
11. Kadlubar S, Anderson JP, Sweeney C, Gross MD, Lang NP, Kadlubar FF, et al. Phenotypic CYP2A6 variation and the risk of pancreatic cancer. *JOP*. 2009;10(3):263–70.
12. Liu Y, Xu Y, Li F, Chen H, Guo S. CYP2A6 deletion polymorphism is associated with decreased susceptibility of lung cancer in Asian smokers: a meta-analysis. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. 2013;34(5):2651–7.
13. Wang Y, Ji J, Liu Y, Deng X, He Q. Passive Smoking and Risk of Type 2 Diabetes : A Meta- Analysis of Prospective Cohort Studies. *PLoS One*. 2013;8(7):1–6.
14. Na'im, A., Syaputra H. Kewarganegaraan, Suku Bangsa, Agama, dan Bahasa Sehari-Hari Penduduk Indonesia. Jakarta: Badan Pusat Statistik Republik Indonesia; 2011.
15. Rahman MT, Uddin MS, Sultana R, Moue A, Setu M. Polymerase Chain Reaction (PCR): A Short Review. *Anwer Khan Mod Med Coll*. 2013;4(1).
16. Yang M, Kunugita N, Kitagawa K, Kang SH, Coles B, Kadlubar FF, et al. Individual differences in urinary cotinine levels in Japanese smokers: relation to genetic polymorphism of drug-metabolizing enzymes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001;10(6):589–93.
17. Yoshida R, Nakajima M, Nishimura K, Tokudome S, Kwon J-T, Yokoi T. Effects of polymorphism in promoter region of human CYP2A6 gene (CYP2A6*9) on expression level of messenger ribonucleic acid and enzymatic activity in vivo and in vitro. *Clin Pharmacol Ther*. 2003 Jul;74(1):69–76.
18. Gambier N, Batt a-M, Marie B, Pfister M, Siest G, Visvikis-Siest S. Association of CYP2A6*1B genetic variant with the amount of smoking in French adults from the Stanislas cohort. *Pharmacogenomics J*. 2005;5(4):271–5.
19. Martini S. Makna Merokok pada Remaja Putri Perokok. 2014;3(2):119–27.
20. Wismanto, B. Sarwo B. Strategi Penghentian Perilaku Merokok. Semarang: Unika Soegijapranata. 2007;21–2.
21. Djordjevic N, Carrillo JA, Gervasini G, Jankovic S, Aklillu E. In vivo evaluation of CYP2A6 and xanthine oxidase enzyme activities in the Serbian population. *Eur J Clin Pharmacol*. 2010;66(6):571–8.
22. Tan L, Yu J-T, Sun Y-P, Ou J-R, Song J-H, Yu Y. The influence of cytochrome oxidase CYP2A6, CYP2B6, and CYP2C9 polymorphisms on the plasma concentrations of valproic acid in epileptic patients. *Clin Neurol Neurosurg*. 2010;112(4):320–3.
23. Daigo S, Takahashi Y, Fujieda M, Ariyoshi N, Yamazaki H, Koizumi W, et al. A novel mutant allele of the CYP2A6 gene (CYP2A6*11) found in a cancer patient who showed poor metabolic phenotype towards tegafur. *Pharmacogenetics*. 2002;12(4):299–306.

Gambar dan Tabel



Gambar 1. Hasil analisis kualitatif isolat DNA menggunakan teknik elektroforesis.

M: Marker (100 bp DNA *Ladder* Geneaid); **1-7:** Isolat DNA dari sampel darah subjek uji. (Kondisi Elektroforesis: Fase diam Agarose 1%; Fase Gerak larutan TBE 0,5%; Kecepatan 100V/cm; Vol. Injeksi 5 µL)

Alel CYP2A6*1

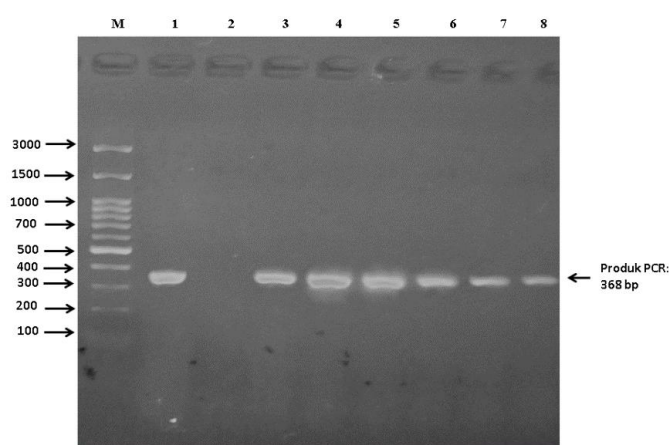
Primer forward^[1]_{SEP}5'

5' ————— 3' →
GATTCCTCTCCCCTGGAAC
CTAAGGAGAGGGGACCTTG
5'

TAAAGGCAAACCACCCCAGCC
ATTTCGTTTGGTGGGGTCGG

← 3' ————— 5'
Primer reverse

Gambar 2. Situs penempelan primer pada sekuen CYP2A6*1



Gambar 3. Identifikasi Produk PCR alel CYP2A6*9 menggunakan tehnik elektroforesis.

M: Marker (100 bp DNA Ladder Geneaid); 1-8: Produk PCR subjek uji.

(Kondisi Elektroforesis: Fase diam Agarose 1%; Fase Gerak larutan TBE 0,5%; Kecepatan 100V/cm; Vol. Injeksi 5 µL)

Tabel 1. Karakteristik Subjek Uji

Karakteristik	Suku	
	Thionghoa	Papua
Jumlah (orang)	30	30
Umur (th):		
Mean ± SD	21,9 ± 2,16	23,33 ± 2,53
Range	20-30	20-28
CPD :		
Mean ± SD	12,96 ± 4,80	10,30 ± 6,22
Range	5-25	3-24
Lama merokok (th):		
Mean ± SD	5,8 ± 1,17	8,03 ± 3,2
Range	5-8	5-18

Tabel 2. Frekuensi Gen CYP2A6*9 pada Populasi Thionghoa dan Papua

Subjek Uji (n = 30)	Frekuensi CYP2A6*9 (%)	Frekuensi CYP2A6*1 (%)
Thionghoa	23,4	76,6
Papua	0	100